

## 福井大学平成22年度重点研究「重点研究育成経費」 消化管上皮細胞の運命決定機構の分子基盤

研究代表者： 横田 義史（医学部・教授）

共同研究者： 森 健太郎（医学部・助教）

概 要	胎生期の消化管形成過程では、上皮細胞とそれに隣接する間充織との間の相互作用が重要な役割を担っています。この上皮-間充織相互作用は、胎生期の形態形成過程で必要なばかりでなく、出生後の消化管の構造と機能を維持する上でも同様に重要な役割を担っています。私たちはこれまで、転写調節因子の1つである Id2 を欠損するマウスでは小腸に異所性の上皮組織が形成され、それを素地として腫瘍化することを見出し、Id2 が胎仔期のマウス小腸上皮の領域特異的な運命決定に関わっていることを明らかにしています。今回、この変異マウスを活用し、消化管の領域特異的な運命決定に関わる上皮細胞-間充織相互作用に関わる分子と遺伝子制御ネットワークについて検討しました。その結果、Id2 は胎仔小腸上皮細胞において複数の遺伝子、特に特定の転写因子の遺伝子発現を制御しており、その制御の破綻が小腸での異所性上皮組織形成の原因になっていることが示唆されました。
関連キーワード	消化管、上皮-間充織相互作用、形態形成、転写因子、遺伝子ネットワーク

### 研究の背景および目的

私たちの体が作られる胎生期の形態形成過程は、それぞれの臓器の上皮細胞とそれに隣接する間充織が綿密に連携し、互いに影響し合いながら進行します。こうした上皮-間充織相互作用は、形態形成過程が終わった後の成人においてもそれぞれの組織構築の維持に不可欠な役割を担っており、その制御機構の破綻は、腫瘍の形成やその悪性化の原因となると考えられています。口腔から直腸に至る消化管は上皮-間充織相互作用によって形成され維持される典型的な臓器ですが、胃や小腸といった消化管の領域特異的な発達過程に関わる上皮-間充織相互作用が遺伝子によってどのように調節されているのかについては、未だ良くわかっていません。一方、胃や腸の上皮組織が食道に形成されたり、小腸の上皮組織が胃に認められることがあります。こうした本来とは異なる消化管領域の性質を持つ上皮組織（異所性上皮組織）は消化管腫瘍の発生素地となることが古くから知られています。この異所性上皮組織の形成過程についてはいくつかの説はあるものの、未だ確定していません。

以上のことから、異所性上皮組織の形成過程を

明らかにすることは、消化管の領域特異的な運命決定機構を理解する上で重要であるばかりでなく、消化管腫瘍の発生機序を明らかにする上でも極めて意義深いと言えます。

私たちは、遺伝子の発現レベルの調節に関わる転写調節因子の1つである Id2 という因子が生体でどのような機能を担っているのかについて研究しています。Id2 遺伝子を欠損させたマウスでは、胎仔期の形態形成の過程で小腸に異所性の上皮組織が形成され、それを素地として小腸腫瘍が発症することをこれまでに見出しています。この Id2 欠損マウスは、消化管の形成に関わる上皮-間充織相互作用の実態、異所性上皮組織の形成過程、さらに異所性上皮組織から腫瘍が発生する機序を解明する上で有用なモデルであるといえます。

本研究の目的は、消化管の形態形成機構と成体の消化管組織構築の維持に深く関与する上皮-間充織相互作用の分子基盤を遺伝子発現調節ネットワークの観点から明らかにすることにあります。

### 研究の内容および成果

#### ①遺伝子 X、および G の胎仔小腸形成過程における機能の解析

遺伝子 X、および、G は、DNA マイクロアレイを用いた網羅的解析で選別し、in situ hybridization 法により、野生型マウス胎仔小腸で

は発現が認められないものの、Id2 欠損胎仔小腸上皮細胞において異所性の発現亢進がみられることを確認した遺伝子であり、両者は同じファミリーに属する転写因子です。Id2 の下流に位置して消化管の運命決定に関与している可能性が推測さ

れ、これらの遺伝子の欠損マウスや過剰発現マウスを用いて、消化管の領域特異的な運命決定への関与を検討しました。

遺伝子 X 欠損 (EGFP のノックイン) マウスをカナダの研究グループから入手し、胎仔消化管における遺伝子 X の発現解析と消化管の形態および組織についての詳細な検討を行いました。胎生 13 日目前後において食道から前胃における遺伝子 X の発現は確認できたものの、遺伝子 X 欠損マウス消化管の明瞭な形態学的異常は認めませんでした。次に Id2 欠損マウスと交配して Id2/遺伝子 X 複合欠損マウスを作成しましたが、Id2/遺伝子 X 複合欠損マウスにおいて Id2 欠損マウスでみられる小腸の異所性胃上皮組織も小腸腫瘍も消失しませんでした。一方、villin プロモーターを用いた遺伝子 X のトランスジェニックマウスを作成し消化管上皮に対する影響を検討したところ、空腸において小腸絨毛が野生型に比べ丈が短く、陰窩が深い傾向が認められたものの、胎生期小腸における異所性の胃上皮組織の形成は認められませんでした。しかし、生存 1 年を越えた一部の遺伝子 X トランスジェニックマウスの小腸に腫瘍様の病変を認めることも判明しています。以上より、遺伝子 X が Id2 の下流因子として消化管の領域特異的な運命決定に関わっている可能性については、さらなる解析が必要であると考えられました。

一方、遺伝子 X と同じファミリーに属する遺伝子 G の欠損マウスも国内の研究者から入手し消化管の構造を組織学的に検討しましたが、特に変異は認めませんでした。

## ②胎生期消化管の発生過程に関わる遺伝子の Id2 欠損マウス胎仔消化管における発現解析

正常の形態形成過程にある消化管組織において

領域特異的な発現様式を示す幾つかの転写因子について、Id2 欠損マウス胎仔消化管における発現様式を in situ hybridization 法を用いて野生型マウスと Id2 欠損マウスで発現様式の比較を行いました。小腸上皮特異的に発現する Cdx2 は Id2 欠損マウス小腸で局所的な発現減弱を認めましたが、食道と胃に発現する Pax9 の異所性発現亢進は認めませんでした。一方、食道と胃の上皮で発現する Sox2 および Foxa2 は、胎仔空腸肛門側において斑状の発現陽性領域を認めました。以上より、消化管の領域特異的な運命決定過程において、Sox2 と Foxa2 が Id2 の下流で機能している可能性が示唆されました。

## ③異所性胃上皮組織形成への Wnt シグナルの関与の有無の検討

Barx1 は胎仔期の胃形成予定域の間充織に発現し、胃の形成に必須の役割を果たす転写因子であり、Id2 欠損マウス胎仔小腸の間充織で異所性に発現することを見出しています。Barx1 は上皮-間充織相互作用において液性因子の Wnt の活性を調節することにより消化管の領域特異的な運命決定に関与していると報告されており、Id2 欠損マウス胎仔小腸の異所性胃上皮形成が Wnt シグナルに関連したものかについて、Apc/Id2 複合欠損マウスを作成し、異所性胃上皮の形成がどのような影響を受けるかについて検討しました。

Id2 欠損マウスの小腸の異所性胃上皮組織の形成に Wnt シグナルが関与しているかについて Apc/Id2 複合欠損マウスを作成し検討しましたが、著明な影響は見られず、異所性胃上皮組織の形成自体には Wnt シグナルは関与していない可能性が示唆されました。

## 本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

### 「主な発表論文等」

投稿準備中

### 「特記事項」

Id2 欠損マウスの小腸腫瘍に関する消化管形成過程での上皮-間充織相互作用に関わる解析については投稿準備中であり、具体的な遺伝子名は明らかにできません。

### 「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

助成組織・助成制度・種目・期間・研究課題・代表/分担・採否・採択金額など

日本学術振興会・科学研究費補助金・基盤 (B) 一般・平成 21～23 年度・消化管上皮細胞の Id2 依存的な増殖分化制御の分子基盤・代表・採択・

1390 万円

日本学術振興会・科学研究費補助金・挑戦的萌芽・平成 22～23 年度・胃をモデルとした器官創生の試み・代表・不採択

日本学術振興会・科学研究費補助金・挑戦的萌芽・平成 23～24 年度・魚類を用いた消化管領域特異化機構の解析・代表・申請中